FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Cytokeratin 7
Clone OV-TL 12/30
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS619

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, Clone OV-TL 12/30, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/ Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody labels glandular and transitional epithelial cellsand is useful for the identification of adenocarcinomas of the lung (1), breast and endometrium, thyroid gland (2) and ovary (3), as well as chromophobe renal cell carcinomas (4). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

Cytokeratin 7 (CK7) belongs to the intermediate filaments, which create a cytoskeleton in almost all eukaryotic cells. In contrast to other intermediate filaments, cytokeratins (CKs) are made up of a highly complex multigene family of polypeptides with molecular masses ranging from 40 to 68 kDa. CKs are generally held to belong to the most fundamental markers of epithelial differentiation, and until now, 20 distinct CK polypeptides have been revealed in various human epithelia (5, 6). The CKs can be divided into an acidic type A (class I) and a neutral-basic type B (class II) subfamily. CK7, a 54 kDa protein, belongs to the neutral-basic type B subfamily, and its distribution is confined to glandular and transitional epithelia (5).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: OV-TL 12/30. Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen

OTN 11, ovarian carcinoma cell line (1, 8).

Specificity

SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between Triton X-100-extracted cytoskeleton preparations of several cell cultures and tissues and the antibody a 54 kDa band is labeled corresponding to cytokeratin 7 (1).

Precautions

1. For professional users.

2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.

3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.

5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date sta mped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: CK7 (without counterstaining) or CK7H (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include pancreas and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display cytoplasmic staining.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody consistently labels a large number of simple-, complex- and transitional epithelia, including biliary and pancreatic ducts, lung alveoli, endometrium, distal convoluted tubules and collecting ducts of the kidney (simple epithelia), bronchial and bronchiolar epithelium, ducts of prostate, luminal cells of fallopian tube and endocervix, bronchial-, breast-, salivary-, sweat- and endocervical glands, placental trophoblasts (complex pithelia), and all cell layers of urothelium (transitional epithelium) (2). Additionally, the antibody labels ovarian mesothelium (3), and labeling has also been observed in luminal- and basal cells of the prostate and myoepithelial cells (2). In pancreas, the epithelial cells of the large acinar ducts show a moderate to strong staining reaction, whereas the epithelial cells of intercalating pancreatic ducts show a weak to moderate staining reaction.

Abnormal tissues: In the human ovary, 12/12 cystoma simplex, 12/12 cystadenomas and 60/60 carcinomas were labeled by the antibody (3). Furthermore, 6/6 endometrial-, 4/4 endocervical-, 3/3 breast-, and 3/3 thyroid carcinomas were positive (2). In the human lung, 20/20 adenocarcinomas of different grades, including 4 bronchioalveolar carcinomas, were positive with the antibody, whereas 24/24 cases of squamous cell carcinomas were negative, as were 6/6 cases of large cell anaplastic carcinomas (1) and 10/10 cases of mesotheliomas (9). In the human gastrointestinal tract, 5/6 differently graded adenocarcinomas and 3/3 poorly differentiated signet ring cell carcinomas of the stomach, and 1/1 carcinoma of the pancreas were labeled by the antibody, whereas anaplastic stomach-, small intestine-, and rectal carcinomas as well as colon adenocarcinomas of different grades were negative (2). 6/6 chromophobe renal cell carcinomas were positive, whereas 8/11 oncocytomas were entirely negative with the antibody (4).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, clone OV-TL 12/30, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/ Autostainer Plus), est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps marque les cellules épithéliales glandulaires et transitionnelles et facilite l'identification des adénocarcinomes du poumon (1), du sein et de l'endomètre, de la glande thyroïde (2) et de l'ovaire (3), ainsi que les carcinomes rénaux à cellules chromophobes (4). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

La cytokératine 7 (CK7) fait partie des filaments intermédiaires, qui créent un cytosquelette dans presque toutes les cellules eucaryotes. À la différence des autres filaments intermédiaires, les cytokératines (CK) sont constituées d'une famille multigénique hautement complexe de polypeptides dont les poids moléculaires varient entre 40 et 68 kDa. Les CK sont généralement perçues comme faisant partie des marqueurs les plus fondamentaux de la différenciation épithéliale et, jusqu'à présent, 20 polypeptides distincts de CK ont été mis en évidence dans différents épithéliums humains (5, 6). Les CK peuvent être divisées en sous-familles : type A acide (classe I) et type B neutre-basique (classe II). La CK7, une protéine de 54 kDa, appartient à la sous-famille de type B neutre-basique et sa répartition se limite aux épithéliums glandulaire et transitionnel (5).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : OV-TL 12/30. Isotype : IgG_1, kappa.

Immunogène

OTN 11, lignée cellulaire de carcinome ovarien (1, 8).

Spécificité

L'analyse par SDS-PAGE d'immunoprécipités formés entre des préparations cytosquelettiques de plusieurs tissus et cultures cellulaires extraits par Triton X-100 et l'anticorps, une bande de 54 kDa est marquée, qui correspond à la cytokératine 7 (1).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.

2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.

3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.

4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.

5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 □C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004).

Coupes incluses en paraffine : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Coupes déparaffinées : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et d'incubation sont préprogrammées dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL)

Autoprogram : CK7 (sans contre-coloration) ou CK7H (avec contre-coloration).

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la re-programmation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

positif doit comprendre le pancréas et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : L'anticorps marque de manière homogène un grand nombre d'épithéliums simples, complexes et transitionnels, notamment les canaux biliaires et pancréatiques, les alvéoles pulmonaires, l'endomètre, les tubules contournés distaux et les tubes collecteurs du rein (épithéliums simples), l'épithélium bronchique et bronchiolaire, les canaux prostatiques, les cellules luminales des trompes de Fallope et de l'endocol, les glandes bronchiques, mammaires, salivaires, sudoripares et endocervicales, les trophoblastes placentaires (épithéliums complexes), ainsi que toutes les couches de l'urothélium (épithélium transitionnel) (2). En outre, l'anticorps marque le mésothélium ovarien (3) et une coloration a également été observée dans les cellules luminales et basales de la prostate et les cellules myoépithéliales (2). Dans le pancréas, les cellules épithéliales au niveau des acini présentent une réaction modérée à forte, alors que la coloration des cellules épithéliales des canaux pancréatiques intercalaires est faible à modérée.

Tissus tumoraux : Dans l'ovaire humain : 12/12 kystomes simples, 12/12 cystadénomes et 60/60 carcinomes ont été marqués par l'anticorps (3). En outre, 6 carcinomes endométriaux sur 6, 4 carcinomes endocervicaux sur 4, 3 carcinomes mammaires sur 3 et 3 carcinomes thyroïdiens sur 3 étaient positifs (2). Dans le poumon humain : 20 adénocarcinomes de différents grades sur 20, dont 4 carcinomes broncho-alvéolaires, étaient positifs à l'anticorps, alors que 24 cas de carcinome à cellules squameuses sur 24 étaient négatifs, de même que 6 cas de carcinome anaplasique à grandes cellules sur 6 (1) et 10 cas de mésothéliome sur 10 (9). Dans le tractus gastro-intestinal humain : 5 adénocarcinomes de grades différents sur 6, 3 carcinomes faiblement différenciés à cellules en bague de l'estomac sur 3 et 1 carcinome du pancréas sur 1 ont été marqués par l'anticorps, alors que les carcinomes anaplasiques de l'estomac, de l'intestin grêle et du rectum, ainsi que des adénocarcinomes du côlon de différents grades étaient négatifs (2). 6 carcinomes rénaux à cellules chromophobes sur 6 étaient positifs, alors que 8 oncocytomes sur 11 étaient totalement négatifs à l'anticorps (4).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, Clone OV-TL 12/30, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/ Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper markiert Drüsen- und Übergangsepithelzellen und dient zur Erkennung von Adenokarzinomen von Lunge (1), Brust und Endometrium, Schilddrüse (2) und Eierstöcken (3) sowie von chromophoben Nierenzellkarzinomen (4). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Cytokeratin 7 (CK7) gehört zu den Intermediärfilamenten, die in fast allen eukaryotischen Zellen ein Zytoskelett bilden. Im Gegensatz zu anderen Intermediärfilamenten bestehen Zytokeratine (ZK) aus einer hochkomplexen multigenen Familie von Polypeptiden, deren Molekulargewicht von 40 bis 68 kDa reicht. ZK werden zu den wichtigsten Markern für epitheliale Differenzierung gezählt. Bisher wurden 20 unterschiedliche ZK-Polypeptide in verschiedenen menschlichen Epithelen entdeckt (5, 6). Die ZK lassen sich in einen sauren Typ A (Klasse I) und einen neutral-basischen Typ B (Klasse II) unterteilen. Als 54-kDa-Protein gehört CK7 zur neutral-basischen Unterfamilie vom Typ B und seine Verteilung ist auf Drüsen- und Übergangsepithelien begrenzt (5).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Klon: OV-TL 12/30. Isotyp: IgG1, Kappa.

Immunogen

OTN 11, Zelllinie des Eierstockkarzinoms (1, 8).

Spezifität

Bei der SDS-PAGE-Analyse der zwischen den Triton X-100-extrahierten Zellskelett-Präparaten mehrerer Zellkulturen und Gewebe und dem Antikörper gebildeten Immunpräzipitaten wurde eine Cytokeratin 7 entsprechende Bande von 54 kDa markiert (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.

2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.

3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.

4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.

5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschch en aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX+, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrixprotokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)
Autoprogram: CK7 (ohne Gegenfärbung) oder CK7H (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz"-Schritt auf „Pufferspülgang" eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz"-Schritt auf „Keine" einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positives Kontrollgewebe sollte Pankreaszellen enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches Färbemuster auf.

Leistungsmerkmale

Gesundes Gewebe: Der Antikörper markiert konsistent eine große Anzahl einfacher, komplexer und Übergangsepithelien, u. a.: Gallen- und Pankreasgänge, Alveolen der Lunge, Endometrium, distale geknäulte Anteile (Partes convolutae) der Tubuli und Sammelgänge der Niere (einfache Epithelien), bronchiales und bronchiolares Epithel, Prostatagänge, luminale Zellen von Salpinx und Endozervix, Drüsen der Bronchien und Mamma, Speichel und Schweiß produzierende Drüsen, endozervikale Drüsen, Trophoblasten der Plazenta (komplexe Epithelien) und sämtliche Zellschichten des Urothels (Übergangsepithel) (2). Zudem markiert der Antikörper das Eierstock-Mesothel (4). Ebenso wurde eine Markierung bei Luminal- und Basalzellen der Prostata und bei Myoepithelzellen beobachtet (2). Im Pankreas zeigen die Epithelzellen der großen Azinusgänge eine mäßige bis starke Färbereaktion, die Epithelzellen der interkalierenden Pankreasgänge dagegen eine schwache bis mäßige Färbereaktion.

Pathologisches Gewebe: Im menschlichen Eierstock markierte der Antikörper 12 von 12 Cystoma simplex, 12 von 12 Cystadenomen und 60 von 60 Karzinomen (3). Zudem testeten 6 von 6 Endometrium-, 4 von 4 Endozervikal-, 3 von 3 Brust- und 3 von 3 Schilddrüsenkarzinomen positiv (2). Bei der menschlichen Lunge wurden positive Ergebnisse erhalten bei 20 von 20 Adenokarzinomen unterschiedlicher Malignität, einschließlich 4 bronchioalveolaren Karzinomen. Dagegen testeten 24 von 24 Fällen von Plattenepithelkarzinomen negativ, ebenso wie 6 von 6 Fällen großzelliger anaplastischer Karzinome (2) und 10 von 10 Fällen von Mesotheliomen (9). Beim menschlichen Gastrointestinaltrakt wurden 5 von 6 Adenokarzinomen unterschiedlicher Malignität und 3 von 3 schlecht differenzierten Siegelringzellkarznomen des Magens und 1 von 1 Pankreaskarzinom durch den Antikörper markiert. Dagegen ergaben anaplastische Adenokarzinome des Magens, Dünndarms und Rektums sowie Adenokarzinome des Dickdarms mit unterschiedlicher Malignität negative Ergebnisse (2). 6 von 6 chromophoben Nierenzellen waren positiv, während 8 von 11 Onkozytomen mit dem Antikörper vollständig negative Ergebnisse aufwiesen (4).

References/ Références/ Literatur

1. van de Molengraft FJJM, van Niekerk CC, Jap PHK, Poels LG. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology 1993; 22:35-8.
2. van Niekerk CC, Jap PHK, Ramaekers FCS, van de Molengraft F, Poels LG. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. J Pathol 1991; 165:145-52.
3. van Niekerk CC, Boerman OC, Ramaekers FCS, Poels LG. Marker profile of different phases in the transition of normal human ovarian epithelium to ovarian carcinomas.Am J Pathol 1991;138:455-63.
4. Leroy X, Moukassa D, Copin MC, Saint F, Mazeman E, Gosselin B. Utility of cytokeratin 7 for distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from renal oncocytoma. Eur Urol 2000; 37:484-7.
5. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982; 31:11-24.
6. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. In: Hermann, Harris, editors. Subcellular biochemistry. Volume 31, New York: Plenum Press; 1998. p. 205-62.
7. Ramaekers F, van Niekerk C, Poels L, Schaafsma E, Huijsmans A, Robben H, et al. Use of monoclonal antibodies to keratin 7 in the differential diagnosis of adenocarcinomas. Am J Pathol 1990; 136:641-55.
8. Poels LG, Jap PHK, Ramaekers FCS, Scheres JMJC, Thomas CMG, Vooijs PG, et al. Characterization of a hormone-producing ovarian carcinoma cell line. Gynecol Oncol 1989;32:203-14.
9. Baars JH, de Ruijter JLM, Smedts F, van Niekerk CC, Poels LG, Seldenrijk CA, et al. The applicability of a keratin 7 monoclonal antibody in routinely Papanicolaou-stained cytologic specimens for the differential diagnosis of carcinomas. Am J Clin Pathol 1994; 101:257-61.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	2 °C – 8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Use by Utiliser avant Verwendbar bis
IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	Σ Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer Fabricant Hersteller
Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung	

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17